

СПОСОБ ИССЛЕДОВАНИЯ АГРЕГАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

Акулёнок А.В., Козловский В.И.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

В результате проведенных ранее клинических исследований было установлено, что лейкоциты активно участвуют в формировании реологических свойств крови, обеспечивая не менее 25% общей вязкости крови [2]. Мембрана лейкоцита представляет собой обширное рецепторное поле, реагирующее на различные изменения гомеостаза. Происходящая при этом активация лейкоцитов реализуется в виде образования агрегатов лейкоцитов и адгезии на эндотелии сосудов с последующей обструкцией просвета капилляра и ишемией в зоне перфузии. При этом выброс биологически активных веществ (простагландины, лизосомальные ферменты, активные формы кислорода) усугубляет повреждение сосудов и тканей.

В норме 3-5 % периферических лейкоцитов группируются в агрегаты, в то время как при ряде патологических состояний этот показатель увеличивается до 45 % [3].

Активное участие лейкоцитов в сердечно-сосудистой патологии отмечалось как в эксперименте у гипертензивных крыс [4], так и у больных артериальной гипертензией [5]. Несмотря на актуальность изучения вклада лейкоцитов реализацию патологических реакций в системе микроциркуляции, в частности, у больных артериальной гипертензией, способы исследования агрегационных свойств лейкоцитов разработаны недостаточно.

Цель работы – разработка количественного способа исследования агрегации суспензии лейкоцитов на отечественном агрегометре «СОЛАР».

Исследования проводили на лейкоцитах человека. Натощак из локтевой вены брали по 5 мл крови в пластиковые пробирки. Кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (9:1). Исследование проводили в течение 2-х часов от момента забора крови. Отделение лейкоцитов от эритроцитов производили осаждением в плазме. Для этого отстаивали кровь в пробирках, находящихся под углом 45° при температуре 4°C в течение 1 часа. После центрифугирования (500 об/мин, 5 мин) клетки дважды отмывали в фосфатном буфере (рН 7,4). Агрегацию лейкоцитов определяли методом Born [1] на агрегометре «СОЛАР». Предварительно прибор калибровали по двум точкам. При этом светопропускание образца лейкоцитарной суспензии принимали за 0%, светопропускание физиологического раствора за 100%. К 0,5 мл суспензии лейкоцитов ($2,5 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл) после 5-минутного термостатирования ($t=37^{\circ}\text{C}$) добавляли 0,1 мл 0,1% раствора адреналина и магнитную мешалку. При этом регистрировалась кривая изменения светопропускания суспензии лейкоцитов. Запись агрегации осуществляли в течение 10 минут. Вычисляли скорость агрегации – изменение светопропускания плазмы (%/мин) после внесения индуктора агрегации и степень агрегации – уровень светопропускания плазмы на 5 минуте после внесения индуктора агрегации (%).

Обследованы 200 больных АГ II степени (средний возраст $57,5 \pm 0,62$ лет). Диагноз АГ верифицирован на основании результатов клинического и инструментального обследования, исключения симптоматических артериальных гипертензий. Контрольную группу составили 30 здоровых людей (средний возраст $55 \pm 1,5$ лет).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы «Statistica 6.0».

Результаты исследования. После добавления адреналина наблюдалось увеличение светопропускания лейкоцитарной суспен-

зии, связанное с образованием агрегатов клеток. Кривая агрегации характеризовалась устойчивым ростом светопропускания после добавления индуктора агрегации, выходящим на плато в среднем к 5-ой минуте измерения.

В контрольной группе степень адреналин-индуцированной агрегации лейкоцитов составила $10,2 \pm 0,5$ %, скорость агрегации - $5,6 \pm 0,4$ %/мин.

У больных АГ на фоне гипертонического криза степень и скорость агрегации лейкоцитов равны соответственно $14,5 \pm 0,5$ % и $7,7 \pm 0,3$ %/мин, что достоверно ($p < 0,01$) больше аналогичных показателей у здоровых лиц. Через 10-12 дней гипотензивной терапии отмечалось статистически достоверное снижение степени (до $12,2 \pm 0,5$ %) и скорости агрегации лейкоцитов (до $6,4 \pm 0,2$ %/мин) ($p < 0,01$).

При проведении корреляционного анализа установлено, что степень агрегации лейкоцитов в группе больных АГ достоверно ($p < 0,05$) коррелирует со скоростью агрегации ($r = 0,5$ во время криза, $r = 0,66$ после купирования криза). Обнаружена слабая положительная корреляция между скоростью агрегации лейкоцитов и концентрацией глюкозы в крови ($r = 0,15$ $p = 0,046$).

Выявленная гиперагрегация лейкоцитов, несомненно, имеет важное значение в патогенезе нарушений микроциркуляции у больных артериальной гипертензией, а, следовательно, указанный способ может быть применен для индивидуализации лечения больных с учётом реологических свойств лейкоцитов.

Общие характеристики способа:

1. Предлагаемый способ исследования агрегации лейкоцитов предоставляет возможность проводить динамическую регистрацию количественных параметров процесса агрегации с использованием доступных реагентов.

2. Способ адаптирован для отечественного анализатора «СОЛАР», однако может быть реализован на других приборах, непрерывно регистрирующем изменения светопропускания.

Выводы:

1. У больных АГ II степени отмечается повышение степени и скорости адреналин индуцированной агрегации лейкоцитов по сравнению с данными у здоровых.

2. Предложенный способ исследования агрегации лейкоцитов с использованием отечественного аппарата «СОЛАР» может использоваться в условиях клинических лабораторий различных медицинских учреждений.

Литература:

1. Born G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. // Nature. - 1962 - Vol. 194. - P. 927-929.
2. De Clerck F., Beerns M., Van Gorp L. et al Blood hyperviscosity in spontaneously hypertensive rats. // Thromb. Res. - 1980. - V 18 - P 291—295
3. Berliner S., Fucks J., Seligsohn U. et al.: Possible role of fibrinogen in the aggregation of white blood cells. // Thrombosis and hemostasis - 1987. -V. 58. - P. 749-752.
4. Schmid-Schonbein GW, Sciffge D, DeLano FA. et al. Leukocyte counts and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. // Hypertension. - V. 17. - P. 323-330.
5. Шляхто Е.В, Моисеева О.М., Лясникова Е.А., и соавт. Реологические свойства крови и функции эндотелия у больных гипертонической болезнью // Кардиология. - 2004.-№ 4.-С. 20-23.